

F12-US In Spec. #1

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-012592

(43)Date of publication of application : 14.01.1997

(51)Int.Cl.

C07H 17/04

A61K 31/70

A61K 31/70

// A61K 35/78

(21)Application number : 07-159017

(71)Applicant : TAISHO PHARMACEUT CO LTD
MEDICINE INST CHINESE ACAD
MEDICAL SCIENCE

(22)Date of filing : 26.06.1995

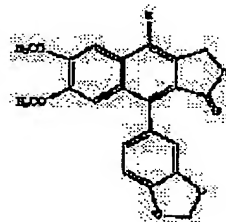
(72)Inventor : KAGAMIZONO TERUMI
KYO TSUGUYOSHI
TANAKA TAKAKO
MAEJIMA AKIKO
ARAI YOSHIFUMI
SHO SHUKU
CHIN IKUKYO
TEI KOKUTEI

(54) LIGNAN-BASED COMPOUND

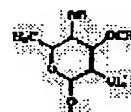
(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a new lignan-based compound having excellent suppressing action against bone resorption and useful as a remedy for diseases based on abnormal bone metabolism such as osteoporosis or hypercalcemia by separating from an extract of *Taiwania-blousiana* and purifying.

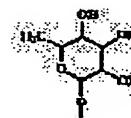
CONSTITUTION: This new lignan-based compound is expressed by formula I (R is a group such as formula II or formula III) and useful as a remedy, etc., for diseases based on abnormal bone metabolism such as osteoporosis or hypercalcemia because of having excellent suppressing action against bone resorption (osteolysis). The compound is obtained by crushing *Taiwania-blousiana*, extracting with an organic solvent such as an alcohol or acetone, water or hot water, etc., obtaining an organic solvent extracted fraction from the resultant extract by a solvent fractionizing method using an organic solvent such as ethyl acetate and purifying the resultant fraction with column chromatography or high-performance column chromatography using silica gel or LH-20, etc.



I



II



III

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-12592

(43) 公開日 平成9年(1997)1月14日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 H 17/04			C 0 7 H 17/04	
A 6 1 K 31/70	AB J		A 6 1 K 31/70	AB J
	ADD			ADD
// A 6 1 K 35/78			35/78	B

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願平7-159017

(22) 出願日 平成7年(1995)6月26日

(71) 出願人 000002819

大正製薬株式会社

東京都豊島区高田3丁目24番1号

(71) 出願人 591120284

中国医学科学院薬物研究所

中華人民共和国北京市宣武区先農壇街1号

(72) 発明者 鏡園 輝美

東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内

(72) 発明者 喬 亜芳

東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内

(74) 代理人 弁理士 北川 富造

最終頁に続く

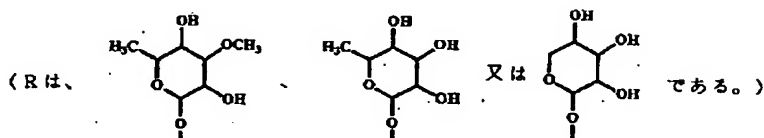
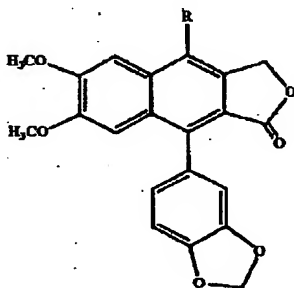
(54) 【発明の名称】 リグナン系化合物

(57) 【要約】

【構成】 式

【目的】 骨吸収抑制作用を有する新規なリグナン系化合物を提供することにある。

【化1】

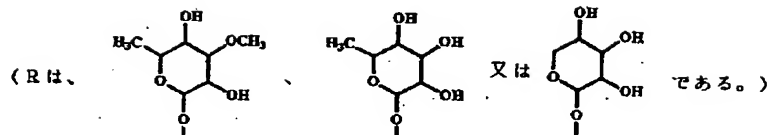
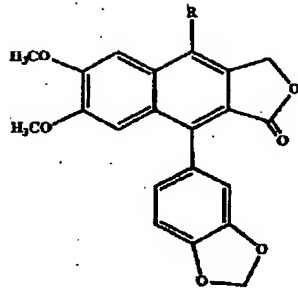


で表される化合物

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 式

【化 1】



で表される化合物

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、骨吸収抑制作用を有するリグナン系化合物に関する。

【0002】

【従来の技術】本発明に構造類似で肝保護作用、鎮痛作用及び脂質低下作用を有するリグナン系化合物は知られているが、骨吸収抑制作用を有するリグナン系化合物は知られていない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、骨吸

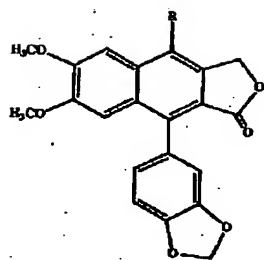
収抑制作用を有する新規なリグナン系化合物を提供することにある。

【0004】

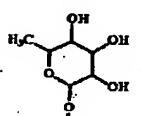
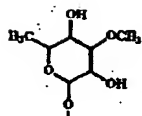
【課題を解決するための手段】本発明者らは、前記目的の達成のために各種の植物成分について種々検討した結果、タイワンスギ (*Taiwania flousiana*) の抽出物に骨吸収抑制効果を有する新規な物質が存在することを見だし、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、式

【0005】

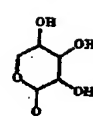
【化 2】



(Rは、

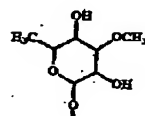


又は



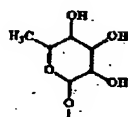
である。)

で表される化合物である(以下、Rが

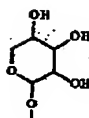


のときをBR-210

B、BR-211B、Rが



のときをBR-212B及びRが



のときをBR-213Bと称する。))。

【0006】なお、BR-210BとBR-211Bは立体異性体である。

【0007】次に、BR-210B、BR-211B、BR-212B、BR-213Bの理化学的性質を以下に示す。

【0008】BR-210B

(1) 外観 淡褐色粉末

(2) 融点 135~140°C

(3) 分子量 540

SIMS m/z 541 (M+H)

(4) 元素分析値:

実測値(%) C 59.21, H 5.47, O 35.25

理論値(%) C 59.26, H 5.47, O 35.27

($C_{28}H_{28}O_{11} \cdot 3/2H_2O$ として計算)

(5) 分子式 $C_{28}H_{28}O_{11}$

(6) 比旋光度:

$[\alpha]_D^{25}$: -158° ($c=0.05$, メタノール)

(7) 紫外線吸収スペクトル: メタノール中で測定
 λ_{max} nm (ϵ) 206 (47000), 225 (26500), 260 (49000), 295 (12000), 317 (12000), 355 (690)

0), 400 (3000)

(8) 赤外線吸収スペクトル: Neat法で測定した結果を図1に示す。

(9) 1H -NMRスペクトル: CD_3OD 中、400 MHzで測定した結果を図2に示す。

(10) ^{13}C -NMRスペクトル: CD_3OD 中、100 MHzで測定した結果を図3に示す。

(11) 溶剤に対する溶解性: クロロホルム、酢酸エチル、メタノールに可溶n-ヘキサン、ベンゼンに難溶水に不溶

(12) 呈色反応:

陽性: I_2 , H_2SO_4

陰性: ニンヒドリン

(13) 塩基性、酸性、中性の区別: 中性。

【0009】BR-211B

(1) 外観 淡黄色粉末

(2) 融点 130~135°C

(3) 分子量 540

SIMS m/z 541 (M+H)

(4) 元素分析値:

実測値(%) C 60.41, H 5.65, O 33.94

理論値(%) C 60.22, H 5.38, O 34.41

(C₂₈H₂₈O₁₁・H₂Oとして計算)

(5) 分子式 C₂₈H₂₈O₁₁

(6) 比旋光度:

[α]_D²⁵: -88° (c=0.05、メタノール)

(7) 紫外線吸収スペクトル: メタノール中で測定

λ_{max} nm (ε) 200 (55000), 228 (29000), 260 (50000), 293 (14000), 318 (13000), 352 (7000), 400 (3000)

(8) 赤外線吸収スペクトル: Neat法で測定した結果を図4に示す。

(9) ¹H-NMRスペクトル: CD₃OD中、400 MHzで測定した結果を図5に示す。

(10) ¹³C-NMRスペクトル: CD₃OD中、100 MHzで測定した結果を図6に示す。

(11) 溶剤に対する溶解性: クロロホルム、酢酸エチル、メタノールに可溶

n-ヘキサン、ベンゼンに難溶

水に不溶

(12) 呈色反応:

陽性: I₂、H₂SO₄

陰性: ニンヒドリン

(13) 塩基性、酸性、中性の区別: 中性。

【0010】BR-212B

(1) 外観 黄褐色粉末

(2) 融点 105~110°C

(3) 分子量 526

SIMS m/z 527 (M+H)

(4) 元素分析値:

実測値 (%) C 61.21, H 6.00, O 32.74

理論値 (%) C 61.60, H 4.94, O 33.46

(C₂₇H₂₆O₁₁として計算)

(5) 分子式 C₂₇H₂₆O₁₁

(6) 比旋光度:

[α]_D²⁵: -30° (c=0.05、メタノール)

(7) 紫外線吸収スペクトル: メタノール中で測定

λ_{max} nm (ε) 200 (46000), 225 (24000), 260 (31000), 290 (11000), 318 (10000), 352 (6300), 400 (3000)

(8) 赤外線吸収スペクトル: Neat法で測定した結果を図7に示す。

(9) ¹H-NMRスペクトル: CD₃OD中、500 MHzで測定した結果を図8に示す。

(10) ¹³C-NMRスペクトル: CD₃OD中、125 MHzで測定した結果を図9に示す。

(11) 溶剤に対する溶解性: クロロホルム、酢酸エチル、メタノールに可溶

n-ヘキサン、ベンゼンに難溶

水に不溶

(12) 呈色反応:

陽性: I₂、H₂SO₄

陰性: ニンヒドリン

(13) 塩基性、酸性、中性の区別: 中性。

【0011】BR-213B

(1) 外観 淡褐色粉末

(2) 融点 190~195°C

(3) 分子量 512

SIMS m/z 513 (M+H)

(4) 元素分析値:

実測値 (%) C 60.80, H 5.88, O 33.06

理論値 (%) C 60.94, H 4.69, O 34.38

(C₂₆H₂₄O₁₁として計算)

(5) 分子式 C₂₆H₂₄O₁₁

(6) 比旋光度:

[α]_D²⁵: -40° (c=0.05、メタノール)

(7) 紫外線吸収スペクトル: メタノール中で測定

λ_{max} nm (ε) 200 (46000), 222 (25000), 260 (41000), 292 (11500), 318 (11000), 355 (6000), 400 (3000)

(8) 赤外線吸収スペクトル:

Neat法で測定した結果を図10に示す。

(9) ¹H-NMRスペクトル: CD₃OD中、500 MHzで測定した結果を図11に示す。

(10) ¹³C-NMRスペクトル: CD₃OD中、125 MHzで測定した結果を図12に示す。

(11) 溶剤に対する溶解性: クロロホルム、酢酸エチル、メタノールに可溶 n-ヘキサン、ベンゼンに難溶 水に不溶

(12) 呈色反応:

陽性: I₂、H₂SO₄

陰性: ニンヒドリン

(13) 塩基性、酸性、中性の区別: 中性。

【0012】本発明のリグナン系化合物をタイフンシギより得るためには、以下の操作を行う。すなわち、タイフンシギ(薬用全草)を粉碎し、アルコール、アセトンなどの有機溶媒、水又は熱水等で抽出する。次いで、得られた抽出物から酢酸エチルなどの有機溶媒を用いた溶媒分画法により有機溶媒抽出画分を得る。この画分をシリカゲル、LH-20等のカラムクロマトグラフィーや高速液体カラムクロマトグラフィーにて精製することにより本発明化合物を単離することができる。

【0013】

【発明の効果】本発明の化合物は、骨吸収(溶解)に対し優れた抑制作用を有するので、骨粗鬆症、高カルシウ

ムなどの骨代謝異常に基づく疾患の治療薬として有用である。

【0014】

【実施例】以下、実施例および試験例を挙げて本発明を具体的に説明する。

実施例

(1) タイワンスギを粉碎し、水で加熱抽出し、濾過後水を溜去し、水抽出物120gを得た。

(2) 前項1で得られた水抽出物120gをメタノール-水に溶解し、*n*-ヘキサンで抽出される画分を除き、次いで酢酸エチルで3回抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を溜去し酢酸エチル抽出画分16gを得た。

【0015】(3) 前項の酢酸エチル抽出物2gをメタノール12mlに溶解し、以下の条件で行った高速液体カラムクロマトグラフィーの試料とした。

カラムサイズ	40φ×300mm
担体	ODSシリカゲル(ワイエムシー社製)
溶媒組成	37%アセトニトリル、63%水
流速	24ml/min
温度	26℃
検出波長	215nm
装置	ウオーターズ M-600。

【0016】保持時間27.5~31.0分、25.0~27.5分、17.0~19.4分、15.0~17.0分の画分を分取し、各々淡褐色粉末としてBR-210Bを55.4mg、淡黄色粉末としてBR-211Bを25.5mg、黄褐色粉末としてBR-212Bを33.0mg、淡褐色粉末としてBR-213Bを17.4mg得た。

【0017】試験例 (骨吸収抑制作用)

ボン アンド ミネラル[第17巻、第347~359号、1992号]に準じて試験を行った。

(1) 骨吸収抑制活性の測定法

5日齢のウサギより大腿骨及び頸骨を摘出後ハサミで細切し、5%ウシ胎児血清(FBS)を含むα-ミニマムエッセンシャルメジウム(MEM)中で30秒攪拌した。3分間静置後分離した破骨細胞を含む細胞懸濁液の上清を直径6mm、150μmにスライスした象牙片を入れた96wellプレートに、4×10⁵/250μl/wellになるように播種した。37℃、5%イン

キュベーター中で2時間放置し細胞を象牙片上に接着させた後、上清を取り除き、ジメチルスルホオキシドにて所要濃度に調製した本発明化合物を添加した5%FBSを含むα-MEMを100μl/well加えた。37℃、10%インキュベーター中で24時間培養した後、上清及び象牙片上の細胞を取り除いた。アシッドヘマトキシリン原液を50μl/well入れ象牙片上にできた吸収窩を5分間染色した後蒸留水で3回洗浄した。顕微鏡下で染色された吸収窩の数を計測し、化合物無添加の対照群で形成された吸収窩の数を100%としたときの化合物添加群の吸収窩数を算出し、50%骨吸収抑制濃度(IC₅₀値)を求めた。

【0018】その結果本発明化合物のIC₅₀値はBR-210B及びBR-211Bが0.001μg/ml、BR-212B及びBR-213Bが0.02μg/mlとなった。

【図面の簡単な説明】

【図1】 Neat法で測定したBR-210Bの赤外線吸収スペクトルを示す。

【図2】 CD₃OD中、400MHzで測定したBR-210Bの¹H-NMRスペクトルを示す。

【図3】 CD₃OD中、100MHzで測定したBR-210Bの¹³C-NMRスペクトルを示す。

【図4】 Neat法で測定したBR-211Bの赤外線吸収スペクトルを示す。

【図5】 CD₃OD中、400MHzで測定したBR-211Bの¹H-NMRスペクトルを示す。

【図6】 CD₃OD中、100MHzで測定したBR-211Bの¹³C-NMRスペクトルを示す。

【図7】 Neat法で測定したBR-212Bの赤外線吸収スペクトルを示す。

【図8】 CD₃OD中、500MHzで測定したBR-212Bの¹H-NMRスペクトルを示す。

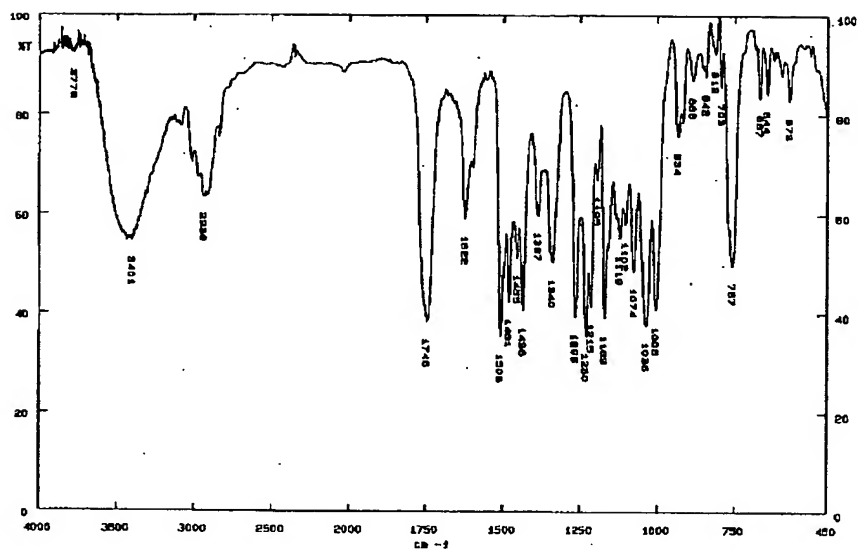
【図9】 CD₃OD中、125MHzで測定したBR-212Bの¹³C-NMRスペクトルを示す。

【図10】 Neat法で測定したBR-213Bの赤外線吸収スペクトルを示す。

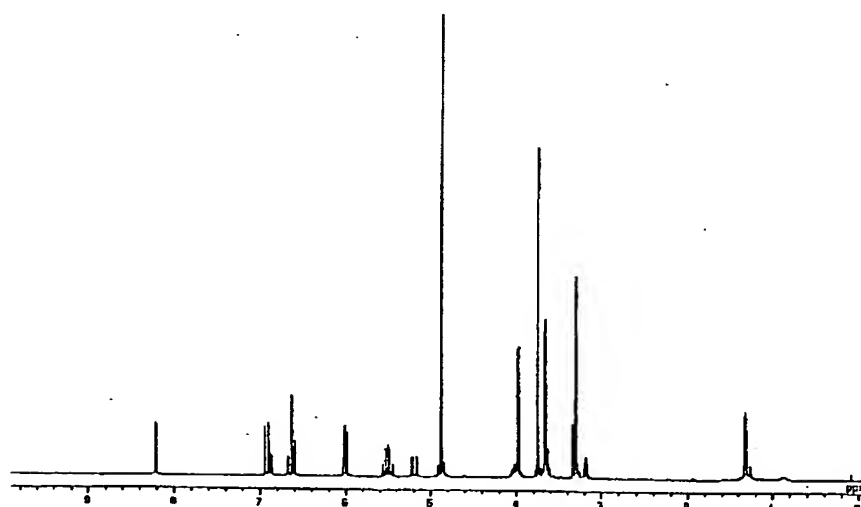
【図11】 CD₃OD中、500MHzで測定したBR-213Bの¹H-NMRスペクトルを示す。

【図12】 CD₃OD中、125MHzで測定したBR-213Bの¹³C-NMRスペクトルを示す。

【図1】



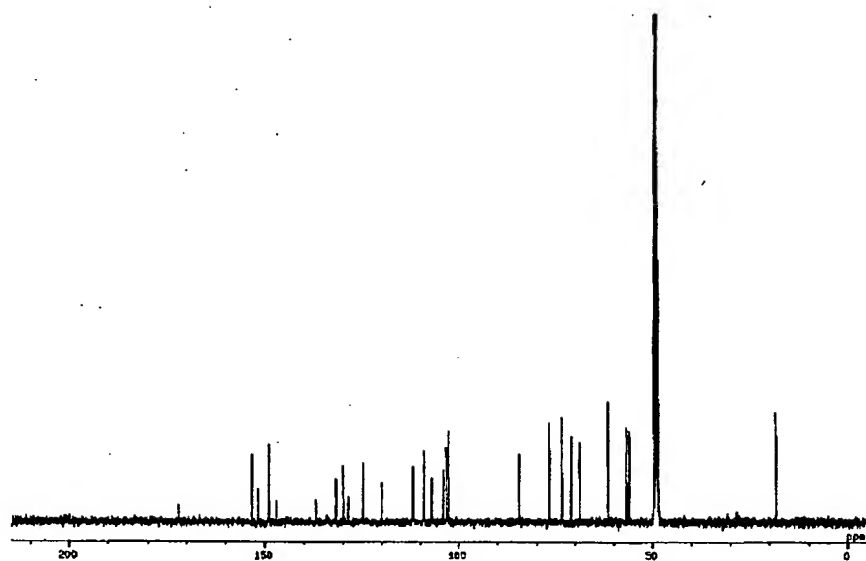
【図2】



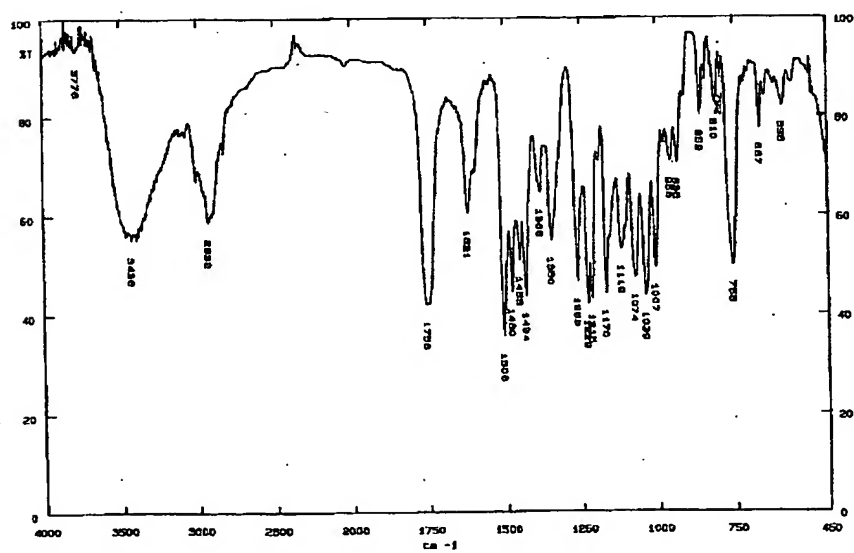
(7)

特開平 9-12592

【図 3】



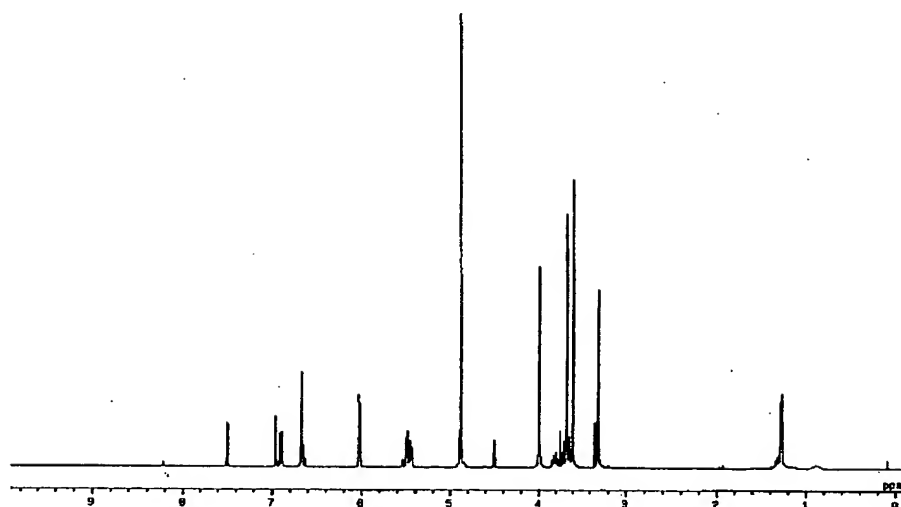
【図 4】



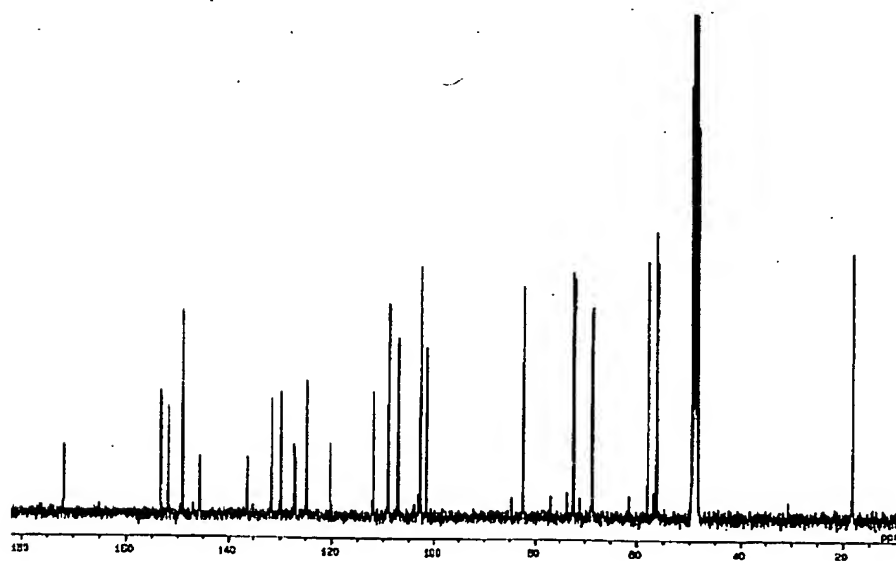
(8)

特開平9-12592

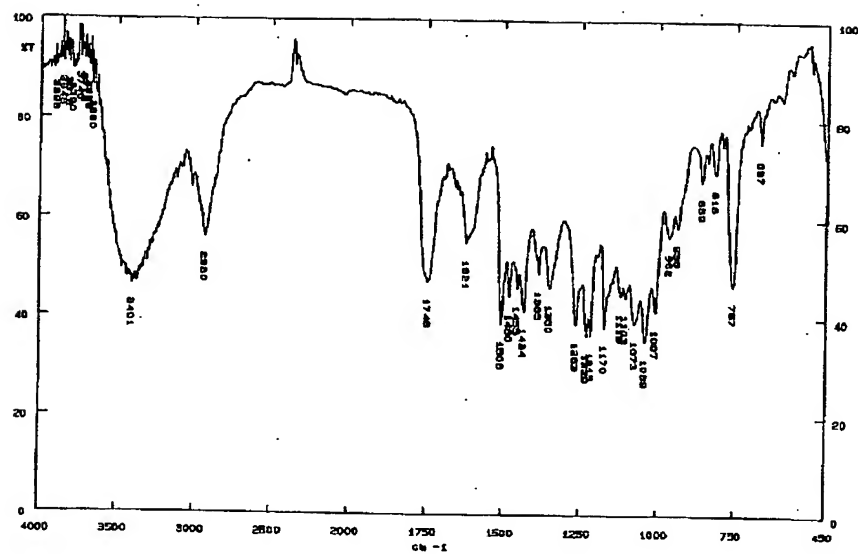
【図5】



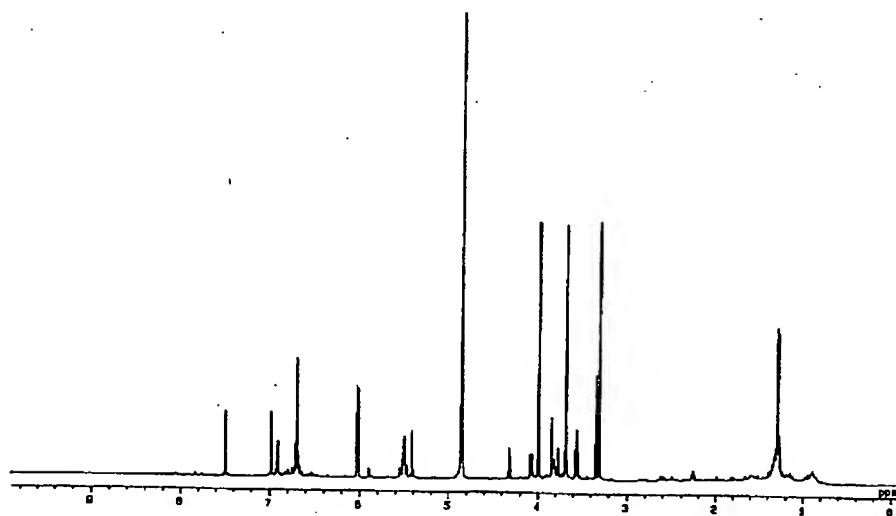
【図6】



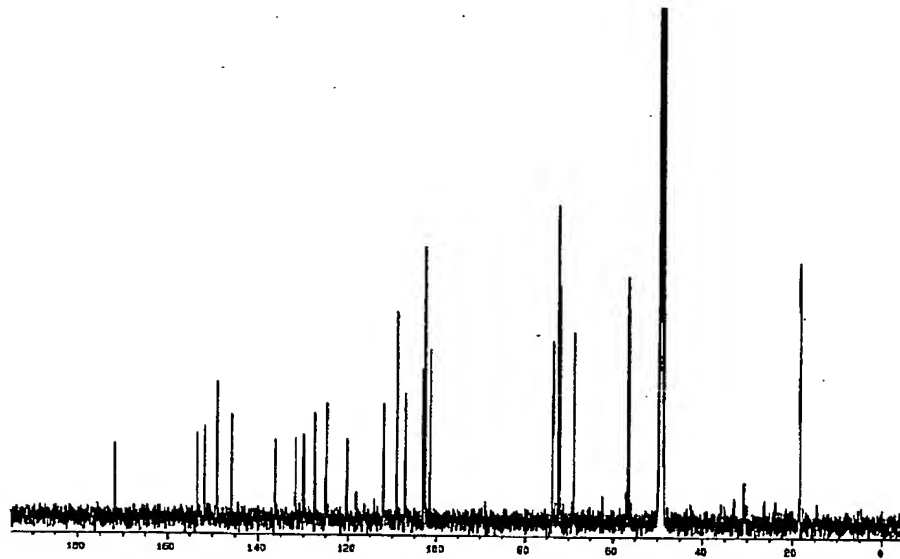
【図 7】



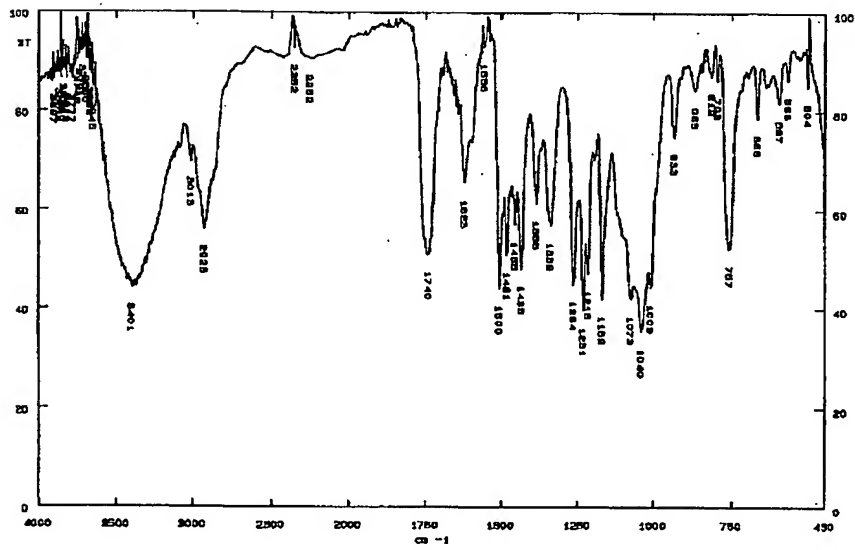
【図 8】



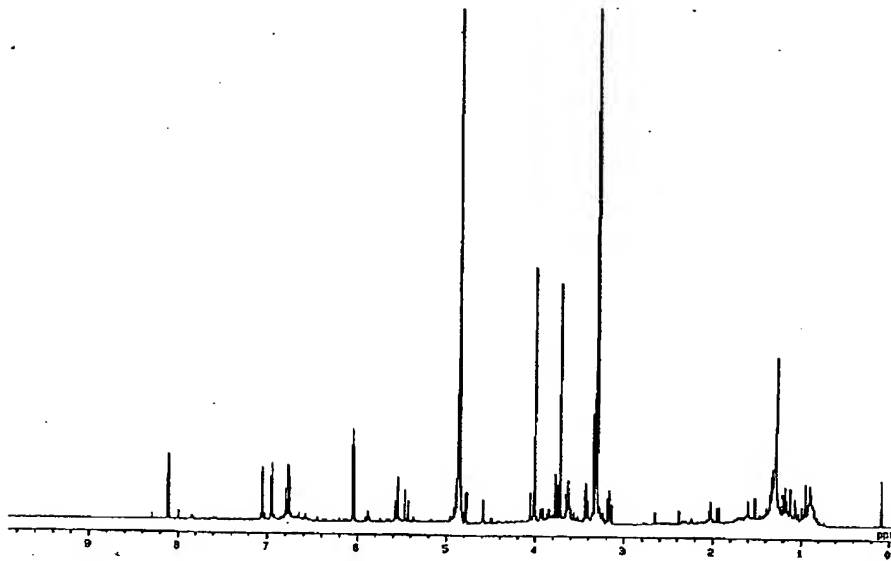
【図 9】



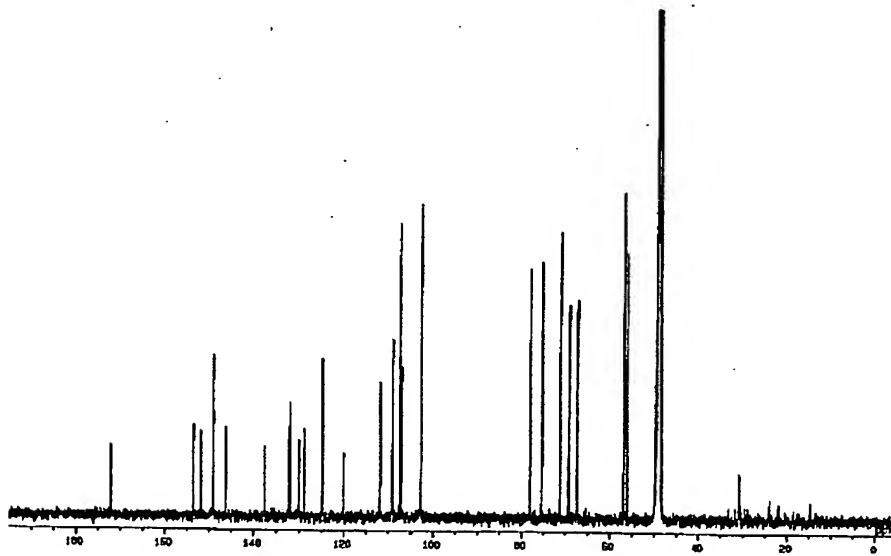
【図 10】



【図 11】



【図 12】



フロントページの続き

(72)発明者 田中 香子
東京都豊島区高田 3 丁目 24 番 1 号 大正製
薬株式会社内
(72)発明者 前島 明子
東京都豊島区高田 3 丁目 24 番 1 号 大正製
薬株式会社内

(72)発明者 新井 好史
東京都豊島区高田 3 丁目 24 番 1 号 大正製
薬株式会社内
(72)発明者 章 菽
中華人民共和国北京市宣武区先農壇街 1 号
中国医学科学院藥物研究所内

(12)

特開平 9 - 1 2 5 9 2

(72) 発明者 陳 毓享

中華人民共和国北京市宣武区先農壇街 1 号
中国医学科学院藥物研究所内

(72) 発明者 程 克棟

中華人民共和国北京市宣武区先農壇街 1 号
中国医学科学院藥物研究所内